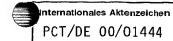
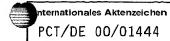
INTERNATION RECHERCHENBERICHT



		PCT/DE 0	0/01444
C.(Fortsetz	ung) ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN		
Kategorie°	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht komme	enden Teile	Betr. Anspruch Nr.
X	REED JOHN C ET AL: "BCL-2 Family proteins: Regulators of cell death involved in the pathogenesis of cancer and resistance to therapy." JOURNAL OF CELLULAR BIOCHEMISTRY, Bd. 60, Nr. 1, 1996, Seiten 23-32, XP002161051 ISSN: 0730-2312 Seite 23-25 Seite 27-28		1-6,9-16
X	LOWE SCOTT W ET AL: "P53 status and the efficacy of cancer therapy in vivo." SCIENCE (WASHINGTON D C), Bd. 266, Nr. 5186, 1994, Seiten 807-810, XP002161052 ISSN: 0036-8075 das ganze Dokument		1-6,9-16
X	MCCURRACH MILA E ET AL: "Bax-deficiency promotes drug resistance and oncogenic transformation by attenuating p53-dependent apoptosis." PROCEEDINGS OF THE NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES OF THE UNITED STATES, Bd. 94, Nr. 6, 1997, Seiten 2345-2349, XP002161053 1997 ISSN: 0027-8424 das ganze Dokument		1-6, 10-16
X	FINDLEY HARRY W ET AL: "Expression and regulation of Bcl-2, Bcl-x1, and Bax correlate with p53 status and sensitivity to apoptosis in childhood acute lymphoblastic leukemia." BLOOD, Bd. 89, Nr. 8, 1997, Seiten 2986-2993, XP002161054 ISSN: 0006-4971 Seite 2986 -Seite 2988; Tabelle 1		1-6,9-16
X	KRAJEWSKI STANISLAW ET AL: "Reduced expression of proapoptotic gene BAX is associated with poor response rates to combination chemotherapy and shorter survival in women with metastatic breast adenocarcinoma." CANCER RESEARCH, Bd. 55, Nr. 19, 1995, Seiten 4471-4478, XP002161055 ISSN: 0008-5472 das ganze Dokument		1-6,9-16

INTERNATION RECHERCHENBERICHT



		/DE 00/01444
	ung) ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN	
Kategorie°	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden T	eile Betr. Anspruch Nr.
X	WO 98 53103 A (BIBILASHVILLI ROBERT; CHENCHIK ALEX (US); JOKHADZE GEORGE (US); CL) 26. November 1998 (1998-11-26) Seite 14 Seite 52 Seite 77 Seite 103 Seite 131 Seite 149, Zeile 25 -Seite 150, Zeile 2; Tabellen 1,3,6,9	1,11
X	DATABASE BIOSIS 'Online! BIOSCIENCES INFORMATION SERVICE, PHILADELPHIA, PA, US; August 1998 (1998-08) TAI YU-TZU ET AL: "BAX protein expression and clinical outcome in epithelial ovarian cancer." Database accession no. PREV199800406324 XP002161066 Zusammenfassung & JOURNAL OF CLINICAL ONCOLOGY, Bd. 16, Nr. 8, August 1998 (1998-08), Seiten 2583-2590, ISSN: 0732-183X	1-6, 10-16
A	MEIJERINK JULES P P ET AL: "Hematopoietic malignancies demonstrate loss-of-function mutations of BAX." BLOOD, Bd. 91, Nr. 8, 15. April 1998 (1998-04-15), Seiten 2991-2997, XP002161056 ISSN: 0006-4971 das ganze Dokument	1-16

nformation on patent family members

International Application No PCT/DE 00/01444

Patent document cited in search repor	Patent document cited in search report			atent family member(s)	Publication date
WO 9853103	А	26-11-1998	US AU EP US	5994076 A 7593398 A 0988398 A 6077673 A	30-11-1999 11-12-1998 29-03-2000 20-06-2000

WELTORGANISATION FUR GEISTIGES EIGENTUM

Internationales Büro

INTERNATIONALE ANMELDUNG VERÖFFENTLICHT NACH DEM VERTRAG ÜBER DIE
INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT AUF DEM GEBIET DES PATENTWESENS (PCT)

(51) Internationale Patentklassifikation 7:

C12Q 1/68

A2

(11) Internationale Veröffentlichungsnummer: WO 00/70085

(43) Internationales Veröffentlichungsdatum:

23. November 2000 (23.11.00)

(21) Internationales Aktenzeichen:

PCT/DE00/01444

(22) Internationales Anmeldedatum:

10. Mai 2000 (10.05.00)

(30) Prioritätsdaten:

ţ

199 22 052.2

14. Mai 1999 (14.05.99)

DE

(71) Anmelder (für alle Bestimmungsstaaten ausser US): THER-MOLEKULARMEDIZINISCHE INFORMA-TIONSSYSTEME AG [DE/DE]; Robert-Rössle-Str. 10, D-13125 Berlin (DE).

(72) Erfinder; und

(75) Erfinder/Anmelder (nur für US): DANIEL, Peter [DE/DE]; Treiberpfad 14, D-13469 Berlin (DE). HILLEBRAND, Timo [DE/DE]; Bansiner Str. 60, D-12619 Dollin (DE). DÖRKEN, Bernd [DE/DE]; Lyckallee 47, D-14055 Berlin (DE). BENDZKO, Peter [DE/DE]; Ifflandstr. 32, D-12623 Berlin (DE).

(74) Anwalt: BAUMBACH, Fritz; Robert-Rössle-Str. D-13125 Berlin (DE).

(81) Bestimmungsstaaten: AE, AG, AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BY, CA, CH, CN, CR, CU, CZ, DK, DM, DZ, EE, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, NO, NZ, PL, PT, RO, RU, SD, SE, SG, SI, SK, SL, TJ, TM, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VN, YU, ZA, ZW, ARIPO Patent (GH, GM, KE, LS, MW, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZW), eurasisches Patent (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), europäisches Patent (AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE), OAPI Patent (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

Veröffentlicht

Ohne internationalen Recherchenbericht und erneut zu veröffentlichen nach Erhalt des Berichts.

(54) Title: METHOD FOR DETECTING THE EFFECT OF DIFFERENT CHEMOTHERAPEUTIC AGENTS AND/OR RADIATION THERAPY IN MALIGNANT DISEASES AND METHOD FOR SELECTING MORE EFFECTIVE THERAPEUTIC AGENTS FOR THE THERAPY THEREOF

(54) Bezeichnung: VERFAHREN ZUM NACHWEIS DER WIRKUNG VON UNTERSCHIEDLICHEN CHEMOTHERAPEUTIKA UND/ODER EINER STRAHLENTHERAPIE BEI MALIGNEN ERKRANKUNGEN SOWIE VERFAHREN ZUR AUSWAHL WIRKUNGSVOLLER THERAPEUTISCHER MITTEL ZU DEREN THERAPIE

(57) Abstract

The invention relates to a method for detecting the effect of different chemotherapeutic agents and/or radiation therapy in malignant diseases, wherein the expression profile of tumor and/or cell growth and/or apoptosis associated genes and/or individual differences (mutations) in gene sequences are determined. Changes associated with chemotherapeutic agents and/or radiation therapy are identified, represented and diagnostically evaluated. The invention further relates to a method for selecting more effective therapeutic agents for the therapy of malignant diseases. The status of cell cycle genes and/or apoptosis-associated target genes or gene products thereof in body fluids, cells and/or organs is determined and diagnostically evaluated to determine their effect on corresponding therapeutic agents. In a preferred embodiment, Bax and p53 expressions or mutations are investigated and the findings therefrom are used for deciding individual-specific therapy in leukemia and other malignant diseases.

(57) Zusammenfassung

Die Erfindung betrifft ein Verfahren zum Nachweis der Wirkung von unterschiedlichen Chemotherapeutika und/oder einer Strahlentherapie bei malignen Erkrankungen, wobei die Expressionsprofile von Tumor- und/oder Zellwachstum- und/oder Apoptose-assoziierten Genea-Goder die individuellen Unterschiede (Mutationen) in den Gen-Sequenzen bestimmt werden. Veränderungen im Zusammenig mit Chemotherapeutika und/oder Strahlentherapie werden identifiziert, dargestellt und diagnostisch bewertet. Weiterhin betrifft die Erfindung ein Verfahren zur Auswahl wirkungsvoller therapeutischer Mittel zur Therapie maligner Erkrankungen. Es wird der Status von Zellzyklusgenen und/oder von Apoptose-assoziierten Targetgenen bzw. von deren Genprodukten in Körperflüssigkeiten, Zellen und/oder Organen bestimmt und hinsichtlich ihrer Wirkung auf entsprechende therapeutische Mittel diagnostisch ausgewertet. In einer bevorzugten Ausführungsform werden Bax- und p53-Expression bzw. Mutationen untersucht und daraus abgeleitet Aussagen zur individualspezifischen Therapie-Entscheidung bei Leukämien und anderen malignen Erkrankungen bereitgestellt.

LEDIGLICH ZUR INFORMATION

Codes zur Identifizierung von PCT-Vertragsstaaten auf den Kopfbögen der Schriften, die internationale Anmeldungen gemäss dem PCT veröffentlichen.

AL	Albanien	ES	Spanien	LS	Lesotho	SI	Slowenien
AM	Armenien	FI	Finnland	LT	Litauen	SK	Slowakei
AT	Österreich	FR	Frankreich	LU	Luxemburg	SN	Senegal
AU	Australien	GA	Gabun	LV	Lettland	SZ	Swasiland
AZ	Aserbaidschan	GB	Vereinigtes Königreich	MC	Monaco	TĐ	Tschad
BA	Bosnien-Herzegowina	GE	Georgien	MD	Republik Moldau	TG	Togo
BB	Barbados	GH	Ghana	MG	Madagaskar	TJ	Tadschikistan
BE	Belgien	GN	Guinea	MK	Die chemalige jugoslawische	TM	Turkmenistan
BF	Burkina Faso	GR	Griechenland		Republik Mazedonien	TR	Türkei
BG	Bulgarien	HU	Ungarn	ML	Mali	TT	Trinidad und Tobago
BJ	Benin	IE	Irland	MN	Mongolei	UA	Ukraine
BR	Brasilien	H.	Israel	MR	Mauretanien	UG	Uganda _
BY	Belarus	IS	Island	MW	Malawi	US	Vereinigte Staaten von
CA	Kanada	IT	Italien	MX	Mexiko		Amerika
CF	Zentralafrikanische Republik	JP	Japan	NE	Niger	UZ	Usbekistan
CG	Kongo	KE	Kenia	NL	Niederlande	VN	Vietnam
CH	Schweiz	KG	Kirgisistan	NO	Norwegen	YU	Jugoslawien
CI	Côte d'Ivoire	KP	Demokratische Volksrepublik	NZ	Neuseeland	ZW	Zimbabwe
CM	Kamerun		Korea	PL	Polen		
CN	China	KR	Republik Korea	PT	Portugal		
CU	Kuba	KZ	Kasachstan	RO	Rumänien		
CZ	Tschechische Republik	LC	St. Lucia	RU	Russische Föderation		
DE	Deutschland	LI	Liechtenstein	SD	Sudan		
DK	Dänemark	LK	Sri Lanka	SE	Schweden		
EE	Estland	LR	Liberia	SG	Singapur		

穏

WO 00/70085 PCT/DE00/01444

Verfahren zum Nachweis der Wirkung von unterschiedlichen Chemotherapeutika und/oder einer Strahlentherapie bei malignen Erkrankungen sowie Verfahren zur Auswahl wirkungsvoller therapeutischer Mittel zu deren Therapie

Die Erfindung betrifft ein Verfahren zum Nachweis der Wirkung von unterschiedlichen Chemotherapeutika und/oder einer Strahlentherapie bei malignen Erkrankungen, wobei die Expressionsprofile von Tumor- und/oder Zellwachstum- und/oder Apoptose-assoziierten Genen und/oder die individuellen Unterschiede (Mutationen) in den Gen-Sequenzen bestimmt werden. Veränderungen im Zusammenhang mit Chemotherapeutika und/oder Strahlentherapie werden identifiziert, dargestellt und diagnostisch bewertet. Weiterhin betrifft die Erfindung ein Verfahren zur Auswahl wirkungsvoller therapeutischer Mittel zur Therapie maligner Erkrankungen. Es wird der Status von Zellzyklusgenen und/oder von Apoptose-assoziierten Targetgenen bzw. von deren Genprodukten in Körperflüssigkeiten, Zellen und/oder Organen bestimmt und hinsichtlich ihrer Wirkung auf entsprechende therapeutische Mittel diagnostisch ausgewertet. In einer bevorzugten Ausführungsform werden Bax- und p53-Expression bzw. Mutationen untersucht und daraus abgeleitet Aussagen zur individualspezifischen Therapie-Entscheidung bei leukämischen Erkrankungen und anderen tumoralen Erkrankungen bereitgestellt.

Der Prozess einer malignen Veränderung einer Zelle beginnt sehr frühzeitig, oft mit nur einer einzigen Veränderung im genetischen Material. Es verläuft über verschiedene Stadien bis hin zur entarteten Zelle und ist selbst zu diesem Stadium noch nicht beendet.

Fortschritte der modernen Molekularbiologie, einhergehend mit einem besseren Verständnis über die Entstehung bösartiger Veränderungen auf molekularer Ebene, erbrachten eine Vielzahl neuer Informationen über im Prozess der Kanzerogenese und Tumorprogression beteiligte Faktoren. Allerdings zeigen diese Ergebnisse auch deutlich, wie vielgestaltig, different und komplex Veränderungen im molekularen Netzwerk sind, um sich letztlich in einem malignen Phänotyp bzw. therapieresistenten Tumor zu präsentieren. Die Beteiligung verschiedener Faktoren im Prozess einer Tumorentwicklung sind einerseits Ausdruck der Kompliziertheit eines solchen Prozesses, können aber auch für eine diagnostische Anwendung sowie prognostische Risikoabschätzung genutzt werden.

¥.

16

Trotz des bis zum heutigen Zeitpunkt erreichten Erkenntnisstandes, erfolgt die Stadieneinteilung und darauf basierend die Behandlung von Tumorpatienten nach wie vor nach histopathologischen bzw. klinischen Kriterien. Diese konventionelle Klassifikation ist somit auch nach wie vor maßgebend für alle Therapieentscheidungen (Hämatologie Onkologie, Hrsg. P.C. Ostendorfund S. Seeber, Urban und Schwarzenberg 1997;

Kompendium Internistische Onkologie, Hrsg. H.J. Schmoll, K. Höffken, K. Possinger, Springer 1997).

Eine individualspezifische Therapierung auf der Basis einer möglichst umfassenden molekularen Charakterisierung des Tumors konnte bisher nicht durchgeführt werden.

Der Erfindung hatte deshalb die Aufgabe, Erkenntnisse auf molekuarer Ebene für eine individualspezifische Tumortherapie einzusetzen und für die betroffenen Patienten eine wirkungsvolle Auswahl an therapeutischen **:tteln zu finden um eine effektive Behandlung zu ermöglichen.

Tumorentstehung, Tumorprogression und Therapieresistenz werden durch Zellzyklus- und Apoptose-regulierende Faktoren bestimmt. Grundlage der vorliegenden Erfindung war die überraschende Erkenntnis, daß man durch Bestimmung ihres Expressionsprofils diese Tumorbzw. Zellwachstum-assoziierten Gene als prognostische Marker nutzen und das Ansprechen des Patienten auf unterschiedliche Chemotherapeutika, Strahlentherapie sowie klinische Parameter korrelieren kann. Daraus kann in Abhängigkeit vom bestehenden Markerprofil eine effektive und erfolgversprechende Therapieform für den Patienten abgeleitet werden.

Die Erfindung betrifft deshalb ein Verfahren zum Nachweis der Wirkung von unterschiedlichen Chemotherapeutika und/oder einer Strahlentherapie bei malignen Erkrankungen. Erfindungsgemäß werden die Expressionsprofile von Tumor- und/oder Zellwachstum-assoziierten Genen und/oder die individuellen Unterschiede (Mutationen) in den Gen-Sequenzen bestimmt und Wechselwirkungen (Zusammenhänge) mit Chemotherapeutika und/oder Strahlentherapie identifiziert, dargestellt und diagnostisch bewertet.

Es wurde festgestellt, daß die Störung der Apoptose zusammen mit der Deregulation des Zellzyklus ein entscheidender Mechanismus bei Entstehung, Wachstum und der Progression maligner Tumoren ist. Die Rekonstitution der Fähigkeit zum Zellzyklus-Arrest und von apoptosefördernden Genen ist bereits ein wichtiges Ziel experimenteller gentherapeutischer Strategien. Es wurde gefunden, daß eine Hemmung von Apoptose-Signalkaskaden zu Resistenz gegen Zytostatika-und Strahlen-Therapie führen kann, die vor allem bei soliden Tumoren von enormer klinischer Bedeutung ist. Diese Resistenzmechanismen können durch Störungen der Apoptose und des Zellzyklus dadurch entstehen, daß in spezifischen Genen und deren Genprodukten pathologisch relevante Veränderungen enthalten sind. Wichtige Tumorgene, die für Resistenzmechanismen verantwortlich sind, sind z.B. die Gene der bel-2-

ij

14

Ħ

Familie, vzw. Bax, p53, p16, Caspasen, Rb, Zykline, Inhibitoren von Zyklin-abhängigen Kinasen (CDKi's), ATM und Inhibitoren von Apoptose-Proteinen (IAPs).

Bevorzugt werden gemäß der Erfindung die Expressionsprofile und/oder Mutationen von den genannten Genen mittels Protein- oder DNA/RNA-Analytik bestimmt. Es werden dabei die Expressionsprofile und/oder Mutationen von den jeweiligen einzelnen Genen ausgewertet. Es können aber auch die Profile und/oder Mutationen verschiedener Gene kombiniert werden, wodurch das Erstellen individueller Therapieschema verbessert und eine individuelle Prognose und Risikoabschätzung möglich wird. Vorzugsweise werden die Expressionsprofile von Bax-, p53-, p16-, Caspasen- und/oder Rb- Genen oder ihre Mutationen genutzt und diagnostisch ausgewertet. Besonders bevorzugt wird der Status von p53-Genen und von Bax-Genen bzw. von deren Genprodukten identifiziert.

Gegenstand der Erfindung ist insbesondere ein Verfahren zur Auswahl wirkungsvoller therapeutischer Mittel zur Therapie maligner Erkrankungen. Es ist gekennzeichnet durch Bestimmung des Status von Zellzyklusgenen und/oder von Apoptose-assoziierten Targetgenen bzw. von deren Genprodukten ex vivo in Körperflüssigkeiten, Zellen und Organen, der in Zusammenhang mit der Wirkung entsprechender therapeutischer Mittel diagnostisch ausgewertet wird.

Therapeutische Mittel im Sinne der Erfindung sind an sich bekannte Mittel für die Therapie von leukämischen bzw. Lymphom-Erkrankungen und von anderen malignen Erkrankungen, wie z.B. von Tumoren des Gastrointestinaltraktes, des Pankreas, der Prostata, von gynäkologischen Tumoren (wie z.B. Ovar, Zervix, Mamma), Sarkomen, Hirntumoren, Tumoren der Haut und der Lunge sowie Tumoren endokriner Organe, wie z.B. der Schilddrüse u.a.

Es handelt sich um an sich bekannte Zytostatika, vorzugsweise um Steroidhormone (z. B. Prednison, Prednisolon, Methylprednisolon, und andere Glukocorticoide), Antimetaboliten (Cladribin (2-CDA), Fludarabin, Mercaptopurin, Arabinosid C, 5-substituierte Didesoxynukleoside, wie 5-Fluoruracil, Azidothymidin), um Alkylantien (z.B. Mafosfamid, Chlorambucil, Melphalan, Cyclophosphamid), Taxane (wie Paclitaxel, Docetaxel), Anthrazykline (z.B. Idarubicin, Doxorubicin, Epirubicin, Mitoxanthrone), Topo-Isomerase-Inhibitoren (wie Etoposid), Vinca-Alkaloide, (Vincristin, Vinblastin, Vinorelbin), cis-Platin und andere Platinanaloga u. v. a. m. sowie um Strahlentherapie.

Die Erfindung soll im folgenden am Beispiel von leukämischen Erkankungen weiter erläutert werden. So wurde festgestellt, daß bevorzugt zur Therapie von chronischer lymphatischer Leukämie (CLL), unter Auswertung der Bax-Expression oder Mutationen bei Bax-

W.

Expressionsverlust eine Therapie mit Alkylantien, Anthrazyklinen und Vinca-Alkaloiden weitaus weniger wirksam ist. Eine solche Therapie sollte daher vermieden werden und anderen Therapieformen der Vorzug gegeben werden. Die der Erfindung zu Grunde liegenden Daten beweisen eindeutig, daß bei Patienten mit CLL bei einer niedrigen Bax-Expression ein sehr schlechtes Ansprechen auf eine Zytostatika-Therapie in vitro gegenüber den Alkylantien Mafosfamid, Chlorambucil, Melphalan, gegenüber den Anthrazyklinen Doxorubicin, Epirubicin sowie gegen das Vinca-Alkaloid Vincristin vorliegt. Diese in vitro Sensitivitätsdaten korrelieren mit dem Ansprechen auf Therapie in vivo.

Andererseits konnte gezeigt werden, daß zur Therapie von leukämischen Erkrankungen, vorzugsweise von CLL, bei niedriger Bax-Expression eine in vitro Therapie mit Steroidhormonen oder Fludarabin erfolgversprechend ist. Es gibt nämlich keinen Einfluß auf die Ansprechbarkeit gegenüber Steroidhormonen, z.B. Prednisolon und Methylprednisolon oder gegenüber Fludarabin.

Diese in vitro Daten zur Chemoempfindlichkeit der CLL-Zellen zeigen eine gute Korrelation mit dem klinischen Ansprechen der Patienten auf die Substanzen in vivo.

Sie belegen ferner, daß die diagnostische Abklärung des Bax-Status wesentlich für eine Therapieentscheidung ist. Da der Expressionsverlust von Bax auf unterschiedlichen Stufen der Realisierung der genetischen Information erfolgen kann, müssen für eine solche Diagnostik auch verschiedene Nachweisverfahren einbezogen werden. Dies betrifft z.B. den Nachweis mutativer Veränderungen auf Ebene der DNA (z.B. Punktmutationen: Frameshift Mutationen) und den Nachweis von Hypermethylierungsmustern innerhalb der Bax-Promoterregion als mögliche Ursache für ein transkriptionelles Silencing Untersuchungen der Expressionbzw. Expressionshöhe des **Bax-Proteins** (Immunohistochemie oder Western Blot oder Durchflußzytometrie oder andere quantitative Nachweisverfahren) sowie die Analyse transkriptioneller und translationaler Regulatoren und des Proteinabbaus.

Unter Auswertung der p53-Expression oder von Mutationen des p53-Gens hat sich gezeigt, daß zur Therapie von leukämischen Erkrankungen, vorzugsweise von CLL, bei Vorliegen von Mutationen innerhalb der kodierenden Sequenzabschnitte des p53-Gens, eine Therapie mit DNA-schädigenden Substanzen, insbesondere mit Alkylantien, Anthrazyklinen und mit Fludarabin, zu vermeiden ist. Bezüglich einer positiven Korrelation von Mutationen des Tumorsuppressorproteins p53 und einem differentiellen Ansprechen auf Zytostatika konnte nachgewiesen werden, das für Patienten mit Mutationen innerhalb der kodierenden Sequenzabschnitte des p53-Genes ein signifikant schlechteres Ansprechen auf Fludarabin und auf DNA-schädigende Substanzen wie z.B. Alkylantien besteht. Auch für das Kandidatengen p53 muß deshalb eine umfassende diagnostische Analytik auf DNA und Proteinebene

durchgeführt werden. Das gilt prinzipiell auch für die p53-homologen Kandidatengene p73 und p41.

Letztlich kann schon über die kombinierte Diagnostik der beiden Kandidatengene p53 und Bax eine individualisierte Therapieform appliziert werden, indem man durch Kombination des genetischen Status des p53- und Bax-Gens bzw. von deren Genprodukten und/oder Mutationen individuelle Therapieschemata erstellt.

3

Weiterhin betrifft die Erfindung die Verwendung der Statusbestimmung von Zellzyklusgenen und/oder von Apoptose-assoziierten Targetgenen bzw. von deren Genprodukten oder Mutationen mittels Protein-oder DNA/RNA-Analytik zur Bestimmung von Therapieresistenz und zur gezielten Auswahl therapeutischer Mittel für zytotoxische Therapien. Bevorzugt erfolgt die Analyse anhand von Bax-Expression oder Mutationen oder anhand von p53-Expression oder Mutationen.

Besonders bevorzugt erfolgt die Verwendung der Statusbestimmung von Bax- und p53-Genen für eine risikoadaptierte Tumortherapie bei leukämischen Erkrankungen, wie der CLL und anderen Tumoren. In einer weiteren Ausführungsform der Erfindung erfolgt die Verwendung in Kombination von p53 und Bax mit weiteren Zellzyklus-und Apoptose-Regulatoren, die auch entweder allein oder in ihrer Kombination als eine molekulare Pathway-(Signalweg-) Diagnostik bei malignen Tumoren oder Präkanzerosen eingesetzt werden können.

Es ist zwar bekannt, daß z.B. auf Grund einer bestehenden klaren Funktionalität des Tumorsuppressorproteins p53 innerhalb der Zellzyklus- und Apoptoseregulation ein Verlust von p53-Funktion häufig in Tumoren z.B. durch Mutation, Deletion oder Promotorveränderungen gefunden wird. Überraschend war jedoch, daß ein funktional geschädigtes p53-Protein dennoch ein selektives Ansprechen auf bestimmte Zytostatika bei Patienten mit einer chronischen lymphatischen Leukämie (CLL) ermöglicht. Das konnte erstmalig nachgewiesen werden. Dies betrifft darüber hinaus auch eine Vielzahl weiterer apoptoseassoziierter Targetgene und besonders deren funktionelle Kombination.

Die vorliegenden Untersuchungen wurden exemplarisch für das Tumorsuppressorprotein p53 und das proapoptotische Gen Bax bei Patienten mit chronischer lymphatischer Leukämie (CLL) durchgeführt. Weitere Daten liegen z. B. auch für diese und andere Apoptose- und Zellzyklus-Regulatoren vor bei Tumoren des Gastrointestinaltrakte, wie z.B. Magenkarzinom, Ösophagus-Karzinom und Sarkomen.

Mit der vorliegenden Erfindung konnte anhand der beiden apoptosebeeinflussenden Proteine p53 und Bax der schlüssige Nachweis dafür erbracht werden 'daß über eine diagnostische Charakterisierung von entsprechenden Tumorgenen auf molekularer Ebene (DNA) und auf Expressionsebene (Protein) die Möglichkeit besteht, Zytostatika selektiv auszuwählen, um somit eine verbesserte Behandlung zu erreichen. Die Erkenntnisse zur molekularen Pathogenese und Therapieresistenz von Tumoren können erfindungsgemäß als Grundlage für eine individualspezifische Tumortherapie eingesetzt werden und auf diesem Wege eine gezieltere und letztlich für den betroffenen Patienten auch maximal erfolgreiche Behandlung erwirken.

Somit kann man Patienten, die nach molekularen Maßstäben eine per se gute Prognose haben, auf zytotoxische Therapien anzusprechen und ein bessees Überleben nach Therapie zeigen, aufwendige und kostenintensive Therapien ersparen. Gleichzeitig können bei Patienten mit schlechtem Risikoprofil aggressivere Behandlungen durchgeführt werden, um den Therapieeffekt zu verbessern. Weiterhin können bei nachgewiesener Resistenz durch eine weniger aggressive Behandlung unnötige Belastungen für den Patienten und Kosten vermieden werden.

Durch die Erfindung ist es möglich, veränderte zelluläre Tumormarker als Entscheidungskriterium für die Auswahl verschiedener Standard-Chemotherapeutika einzusetzen, d.h. auch positive Korrelationen zwischen veränderten Tumormarkern und der Wirksamkeit bzw. auch Unwirksamkeit von Chemotherapeutika auszunutzen. Dies bietet die Möglichkeit, erstmalig nach einer Charakterisierung von ausgewählten zellulären Tumormarkern selektiv die Form des einzusetzenden Chemotherapeutikums bzw. auch einer Strahlentherapie oder deren Kombination auszuwählen.

Aus der folgenden Tabelle 1 kann aufgrund vergleichender Untersuchungen der Expression von Bax-Protein, das als proapoptotisch bei CLL bekannt ist, und dem Bcl-2-Protein, welches an sich die Aufgabe hat, den Zelltod zu blockieren, die Wirkung verschiedener Zytostatika bei einer CLL-Behandlung entnommen werden. So ist eindeutig ersichtlich, daß das Ansprechen auf Anthrazykline und Alkylantien (Doxorubicin, Epirubicin, Chlorambucil und Mafosfamid) sowie Vincristin eine gute Korrelation zum Bax-Expressionsniveau (Western-Blot) zeigt (p-Wert signifikant und < 0,05). Keine Korrelation wurde hingegen bei Bestimmung der Bcl-2-Expression gefunden. Hingegen zeigt die Wirkung von Steroidhormonen (Methylprednisolon, Prednisolon) bzw. von Fludarabin-Gabe keine Korrelation zum Niveau der Bax-Expression, woraus auf eine erhöhte zytotoxische Wirkung der eingesetzten Mittel auch bei Bax-negativen Tumorzellen geschlossen werden kann.

4

Bestätigt werden diese Aussagen durch die in Abbildung 1 dargestellte Korrelation von Bax und der ex-vivo Antwort von CLL-Patienten auf ein Panel von Zytostatika. Angegeben sind jeweils die relativen Spiegel der Bax-Proteinexpression (densitometrische Werte von Western-Blot-Analysen) und die LC90-Dosis für das jeweilige Zytostatikum.

In Abbildung 2 ist die Korrelation zwischen Bax-Expression mit der LC90 Dosis von Doxorubicin bei 37 CLL-Patienten beschrieben.

Abbildung 3 zeigt die verminderte Zytostatika-Sensivität von CLL-Zellen in vitro gegen die Alkylantien Chlorambucil und Melphalan wie gegen Fludarabin bei p53-mutierten CLL-Patienten im Vergleich zum p53 Wildtyp. Die p53-Mutationen wurden mittels SSCP-PCR für die Exons 5 bis 8 bestimmt. Die Balkenhöhe entspricht der Dosis des Zytostatikums in µg/ml.

Tabelle1:

4

Beziehung zwischen dem Niveau der Proteinexpression von Bax, Bcl-2 und dem Verhältnis der Bax und Bcl-2 Expression (Bcl-2/Bax) und der ex-vivo Zytotoxizität von Zytostatika bei der Behandlung der CLL.

Signifikanz-Niveau des Korrelationskoeffizienten nach Pearson (p-Wert)					
Zytos:tikum	Bax	Bel-2	Bel-2/Bax		
Fludarabin-Phosphat	0.816	0.212	0.829		
Cladribine (2-CDA)	0.524	0.351	0.658		
Chlorambucil	0.034	0.739	0.157		
Mafosfamide	0.017	0.250	0.160		
Methylprednisolone	0.836	0.415	0.880		
Prednisolone	0.807	0.545	0.898		
Vincristine	0.011	0.052	0.127		
Doxorubicin	0.001	0.920	0.001		
Epirubicin	0.002	0.647	0.001		

P-Werte kleiner als 0.05 sind statistisch signifikant

Legenden zu den Abbildungen:

Abbildung 1:

Assoziation der Spiegel von Bax und der ex-vivo Antwort von CLL-Patienten auf ein Panel von Zytostatika. Angegeben sind jeweils die relativen Spiegel der Bax-Proteinexpression (Densitometrische Werte von Western-Blot-Analysen) und die LC90-Dosis für das jeweilige Zytostatikum.

Abbildung 2:

Assoziation zwischen Bax-Expression mit der LC90 Dosis von Doxorubicin bei 37 CLL-Patienten. Dieser Bezug in Hinblick auf die zytotoxische Wirkung des Zytostatikums konnte nur bei Bax, nicht jedoch bei Bcl-2 bzw. dem Quotienten aus Bcl-2 zu Bax beobachtet werden.

Abbildung 3:

Verminderte Zytostatika-Sensivität (Balkenhöhe entspricht Dosis in μg/ml Zytostatikum) bei p53-mutierten CLL-Patienten im Vergleich zum p53 Wildtyp. Die p53-Mutationen wurden mittels SSCP-PCR für die Exons 5 bis 8 bestimmt.

Patentansprüche:

- 1. Verfahren zum Nachweis der Wirkung von unterschiedlichen Chemotherapeutika und/oder einer Strahlentherapie bei malignen Erkrankungen, dadurch gekennzeichnet, daß die Expressionsprofile von Apoptose- und/oder Zellwachstum-regulierenden Genen und/oder die individuellen Unterschiede (Mutationen) in den Gen-Sequenzen bestimmt und Veränderungen im Zusammenhang mit Chemotherapeutika und/oder Strahlentherapie identifiziert, dargestellt und diagnostisch bewertet werden.
- 2. Verfahren nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, daß die Expressionsprofile der Gene der bcl-2-Familie, vzw. Bax, p53, p16, Caspasen, Rb, Zyklinen, Inhibitoren von Zyklin-abhängigen Kinasen (CDKi's), ATM und Inhibitoren von Apoptose-Proteinen (IAPs) und/oder Mutationen in den Genen mittels Protein- oder DNA/RNA-Analytik bestimmt werden und einzeln oder in verschiedenen Kombinationen bewertet werden.
- 3. Verfahren nach Anspruch 1 oder 2, dadurch gekennzeichnet, daß individuelle Unterschiede in der Sequenz von Apoptose und/oder Zellwachstum-regulierenden Genen und/oder der Expression ihrer Genprodukte, die bei malignen Erkrankungen vorkommen, in Bezug zu einer individuell unterschiedlichen Ansprechbarkeit auf Arzneimittel gesetzt und bewertet werden, insbesondere im Hinblick auf ihre Relevanz für Therapie-Ansprechen.
- 4. Verfahren zur Auswahl wirkungsvoller therapeutischer Mittel zur Therapie maligner Erkrankungen, dadurch gekennzeichnet, daß der Status von Zellzyklusgenen und/oder von Apoptose-assoziierten Targetgenen bzw. von deren Genprodukten in Körperflüssigkeiten, Zellen und/oder Organen ex vivo bestimmt und die für diesen Status wirkungsvollen therapeutischen Mittel ausgewählt werden.
- 5. Verfahren nach Anspruch 4, dadurch gekennzeichnet, daß Mittel für die Therapie von leukämischen Erkrankungen und anderen hämatologischen Malignomen und soliden Tumoren, wie z.B. Tumoren des Gastrointestinaltraktes, des Pankreas, der Prostata, von gynäkologischen Tumoren, Sarkomen, Hirntumoren, Tumoren der Haut und der Lunge sowie Tumoren endokriner Organe bewertet werden.
- 6. Verfahren nach Anspruch 4 oder 5, dadurch gekennzeichnet, daß therapeutische Mittel an sich bekannte Zytostatika, vorzugsweise Steroidhormone, Alkylantien, Anthrazykline, Antimetabolite, Taxane, Topo-Isomerase-Inhibitoren, Vinca-Alkaloide, cis-Platin und andere Platin-Derivate u. v. a. m. sind.

- 7. Verfahren nach Anspruch 1 bis 6, dadurch gekennzeichnet, daß zur Therapie von soliden Tumoren bzw. leukämischen und anderen hämatologischen, malignen Erkrankungen, vorzugsweise von chronischer lymphatischer Leukämie, die Bax-Expression oder Mutationen ausgewertet werden und bei niedriger Bax-Expression eine Therapie mit Alkylantien, Anthrazyklinen und Vinca-Alkaloiden vermieden und eine andere Therapieform gewählt wird.
- 8. Verfahren nach Anspruch 1 bis 6, dadurch gekennzeichnet, daß zur Therapie von leukämischen Erkrankungen, vorzugsweise von chronischer lymphatischer Leukämie, die Bax-Expression oder Mutationen ausgewertet wird und bei niedriger Bax-Expression eine Therapie mit Steroidhormonen oder Fludarabin-phosphat/2-CDA erfolgt.
- 9. Verfahren nach Anspruch 1 bis 6, dadurch gekennzeichnet, daß zur Therapie von leukämischen Erkrankungen, vorzugsweise von chronischer lymphatischer Leukämie, die p53-Expression oder Mutationen ausgewertet werden und bei Vorliegen von Mutationen innerhalb der kodierenden Sequenzabschnitte des p53-Genes eine Therapie mit DNAschädigenden Substanzen, insbesondere mit Alkylantien, Anthrazyklinen und Fludarabin, vermieden vermieden und eine andere Therapieform gewählt wird.
- 10. Verfahren nach einem der Ansprüche 1 bis 9, dadurch gekennzeichnet, daß durch Kombination der Bestimmung des Status verschiedener Apoptose- und/oder Zellwachstum-assoziierten Gene, vorzugsweise von p53 und Bax bzw. von deren Genprodukten und/oder Mutationen und/oder deren Homologen individuelle Therapieschemata erstellt werden.
- 11. Verwendung der Statusbestimmung mittels Protein-oder DNA/RNA-Analytik von Apoptose- und/oder Zellwachstum-assoziierten Genen bzw. von deren Genprodukten zur Ermittlung von Resistenzen gegen Strahlentherapie und gegenüber therapeutischen Mitteln sowie zur gezielten Auswahl therapeutischer Mittel für zytotoxische Therapien.
- 12. Verwendung nach Anspruch 11, dadurch gekennzeichnet, daß der Status, nämlich Expressionsprofil und/oder Mutationen, von Genen der bel-2-Familie, vzw. Bax, p53, p16, Caspasen, Rb. Zykline, Inhibitoren Zyklin-abhängiger Kinasen (CDKi's), ATM und Inhibitoren von Apoptose-Proteinen (IAPs) einzelner Gene oder in verschiedenen Kombinationen bestimmt wird.
- 13. Verwendung nach Anspruch 12, dadurch gekennzeichnet, daß der Status von Bax-Expression oder Mutationen des Bax-Gens bzw. Bax-Promotors und Bax-Regulatoren verwendet wird.

- 14. Verwendung nach Anspruch 12, dadurch gekennzeichnet, daß der Status von p53-Expression oder Mutationen des p53-Gens verwendet wird.
- 15. Verwendung nach Anspruch 11 bis 14, dadurch gekennzeichnet, daß Status von Bax und p53 für risikoadaptierte Tumortherapien bei maligne hämatologische Erkrankungen, wie der CLL, und anderen tumoralen Erkrankungen verwendet wird.
- 16. Verwendung nach Anspruch 11 bis 15 einer Kombination von p53 und Bax sowie ggf. weiterer Zellzyklus-und Apoptose-Regulatoren entweder allein oder in ihrer Kombination im Sinne einer molekularen Pathway-Diagnostik bei malignen Tumoren oder Präkanzerosen.

The second secon

30

100 P

44

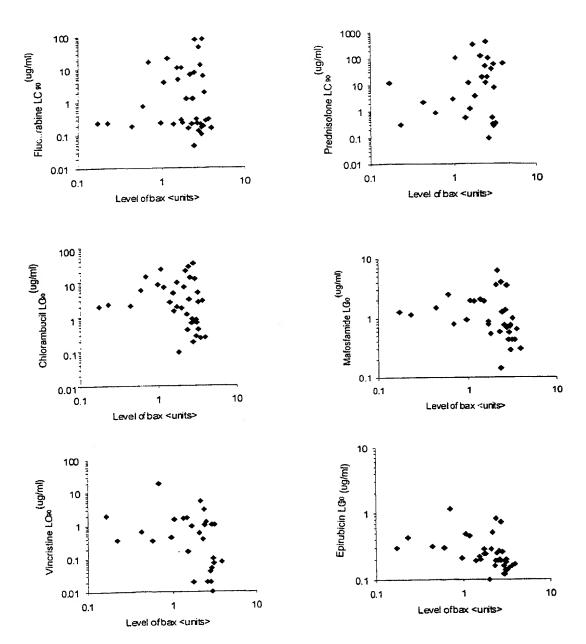
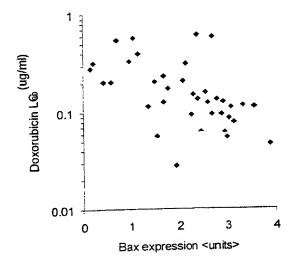
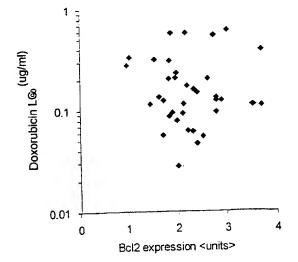


Abb. 1

The state of the s





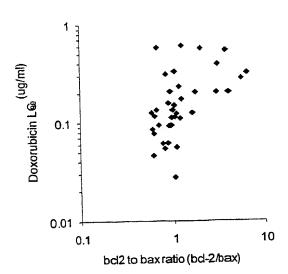
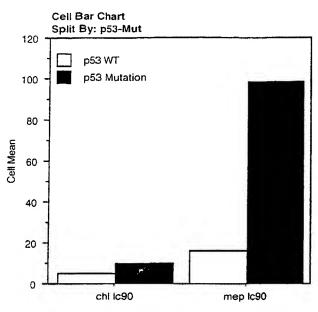


Abb. 2

The second secon

A. Effekt der p53-Mutation auf die Empfindlichkeit gegenüber Chlorambucil und Melphalan.



B. Effekt der p53-Mutation auf die Empfindlichkeit gegenüber Fludarabin.

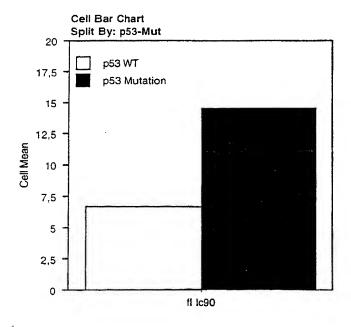


Abb. 3

(12) NACH DEM VERTRAG ÜBER DIE INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT AUF DEM GEBIET DES PATENTWESENS (PCT) VERÖFFENTLICHTE INTERNATIONALE ANMELDUNG

(19) Weltorganisation für geistiges Eigentum Internationales Büro





(43) Internationales Veröffentlichungsdate-23. November 2000 (23.11.2000)

(10) Internationale Veröffentlichungsnummer WO 00/70085 A3

(51) Internationale Patentklassifikation7:

- PCT/DE00/01444 (21) Internationales Aktenzeichen:
- (22) Internationales Anmeldedatum:

10. Mai 2000 (10.05.2000)

(25) Einreichungssprache:

×.

Deutsch

C12Q 1/68

(26) Veröffentlichungssprache:

Deutsch

- (30) Angaben zur Priorität: 14. Mai 1999 (14.05.1999) 199 22 052.2
- (71) Anmelder (für alle Bestimmungsstaaten mit Ausnahme von US): THERAGEN MOLEKULARMEDIZINIS-CHE INFORMATIONSSYSTEME AG [DE/DE]; Robert-Rössle-Str. 10, D-13125 Berlin (DE).

(72) Erfinder; und

- (75) Erfinder/Anmelder (nur für US): DANIEL, Peter [DE/DE]; Treiberpfad 14, D-13469 Berlin (DE). HILLE-BRAND, Timo [DE/DE]; Bansiner Str. 60, D-12619 Berlin (DE). DÖRKEN, Bernd [DE/DE]; Lyckallee 47, D-14055 Berlin (DE). BENDZKO, Peter [DE/DE]; Ifflandstr. 32, D-12623 Berlin (DE).
- (74) Anwalt: BAUMBACH, Fritz; Robert-Rössle-Str. 10, D-13125 Berlin (DE).

(81) Bestimmungsstaaten (national): AE, AG, AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BY, CA, CH, CN, CR, CU, CZ, DK, DM, DZ, EE, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, L1, LU, LV, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, NO, NZ, PL, PT, RO, RU, SD, SE, SG, SI, SK, SL, TJ, TM, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VN, YU, ZA, ZW.

(84) Bestimmungsstaaten (regional): ARIPO-Patent (GH, GM, KE, LS, MW, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZW), eurasisches Patent (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), europäisches Patent (AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT. SE), OAPI-Patent (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

Veröffentlicht:

mit internationalem Recherchenbericht

(88) Veröffentlichungsdatum des internationalen Recherchenberichts: 9. August 2001

Zur Erklärung der Zweibuchstaben-Codes, und der anderen Abkürzungen wird auf die Erklärungen ("Guidance Notes on Codes and Abbreviations") am Anfang jeder regulären Ausgabe der PCT-Gazette verwiesen.

(54) Title: METHOD FOR DETECTING THE EFFECT OF DIFFERENT CHEMOTHERAPEUTIC AGENTS AND/OR RADI-ATION THERAPY IN MALIGNANT DISEASES

(54) Bezeichnung: VERFAHREN ZUM NACHWEIS DER WIRKUNG VON UNTERSCHIEDLICHEN CHEMOTHERAPEU-TIKA UND/ODER EINER STRAHLENTHERAPIE BEI MALIGNEN ERKRANKUNGEN

(57) Abstract: The invention relates to a method for detecting the effect of different chemotherapeutic agents and/or radiation therapy in malignant diseases, wherein the expression profile of tumor and/or cell growth and/or apopular associated genes and/or individual differences (mutations) in gene sequences are determined. Changes associated with chemotherapeutic agents and/or radiation therapy are identified, represented and diagnostically evaluated. The invention further relates to a method for selecting more effective therapeutic agents for the therapy of malignant diseases. The status of cell cycle genes and/or apoptosis-associated target genes or gene products thereof in body fluids, cells and/or organs is determined and diagnostically evaluated to determine their effect on corresponding therapeutic agents. In a preferred embodiment, Bax and p53 expressions or mutations are investigated and the findings therefrom are used for deciding individual-specific therapy in leukemia and other malignant diseases.

(67) Zusammenfassung: Die Erfindung betrifft ein Verfahren zum Nachweis der Wirkung von unterschiedlichen Chemotherapeutika und/oder einer Strahlentherapie bei malignen Erkrankungen, wobei die Expressionsprofile von Tumor- und/oder Zellwachstum- und/oder Apoptose-assoziierten Genen und/oder die individuellen Unterschiede (Mutationen) in den Gen-Sequenzen bestimmt werden. Veränderungen im Zusammenhang mit Chemotherapeutika und/oder Strahlentherapie werden identifiziert, dargestellt und diagnostisch bewertet. Weiterhin betrifft die Erfindung ein Verfahren zur Auswahl wirkungsvoller therapeutischer Mittel zur Therapic maligner Erkrankungen. Es wird der Status von Zellzyklusgenen und/oder von Apoptose-assoziierten Targetgenen bzw. von deren Genprodukten in Körperflüssigkeiten, Zellen und/oder Organen bestimmt und hinsichtlich ihrer Wirkung auf entsprechende therapeutische Mittel diagnostisch ausgewertet. In einer bevorzugten Ausführungsform werden Bax- und p53-Expression bzw. Mutationen untersucht und daraus abgeleitet Aussagen zur individualspezifischen Therapie-Entscheidung bei Leukämien und anderen malignen Erkrankungen bereitgestellt.

Inte ional Application No PCT/DE 00/01444

A. CLASS	A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER IPC 7 C12Q1/68				
According t	to International Patent Classification (IPC) or to both national classi	ification and (PC	·		
	S SEARCHED	incation and if C			
	locumentation searched (classification system followed by classific ${\tt C12Q}$	ation symbols)			
Documenta	ation searched other than minimum documentation to the extent tha	at such documents are included in the fields s	searched		
Electronic c	data base consulted during the international search (name of data	base and, where practical, search terms use	d)		
EPO-In	nternal, PAJ, WPI Data, BIOSIS, EMB/	ASE, CHEM ABS Data			
C. DOCUM	IENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT				
Category °	Citation of document, with indication, where appropriate, of the	relevant passages	Relevant to claim No.		
X	STURM ISRID ET AL: "Analysis of p53/BAX pathway in colorectal car BAX is a negative prognostic fact patients with resected liver met JOURNAL OF CLINICAL ONCOLOGY, vol. 17, no. 5, May 1999 (1999-01364-1374, XP000982432 ISSN: 0732-183X page 1364 page 1371 -page 1372	ancer: Low ctor in tastases."	1-6, 10-16		
X Fun	ther documents are listed in the continuation of box C.	Y Patent family members are listed	ம்		
Special categories of cited documents: A' document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance E' earlier document but published on or after the international filing date L' document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified) O' document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means P' document published prior to the international filing date but		 *T* later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention *X* document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone *Y* document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art. 			
	than the priority date claimed	*&* document member of the same patent			
	eactual completion of the international search	Date of mailing of the International sea 06/03/2001	arch report		
	mailing address of the ISA	Authorized officer			
	European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2 NL - 2280 HV Rijswijk Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl, Fax: (+31-70) 340-3016	Reuter, U			

2

Intc. Jonal Application No PCT/DE 00/01444

C.(Continu	ation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT	FC1/DE 00/01444
Category °	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	REED JOHN C ET AL: "BCL-2 Family proteins: Regulators of cell death involved in the pathogenesis of cancer and resistance to therapy." JOURNAL OF CELLULAR BIOCHEMISTRY, vol. 60, no. 1, 1996, pages 23-32, XP002161051 ISSN: 0730-2312 page 23-25 page 27-28	1-6,9-16
X	LOWE SCOTT W ET AL: "P53 status and the efficacy of cancer therapy in vivo." SCIENCE (WASHINGTON D C), vol. 266, no. 5186, 1994, pages 807-810, XP002161052 ISSN: 0036-8075 the whole document	1-6,9-16
X	MCCURRACH MILA E ET AL: "Bax-deficiency promotes drug resistance and oncogenic transformation by attenuating p53-dependent apoptosis." PROCEEDINGS OF THE NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES OF THE UNITED STATES, vol. 94, no. 6, 1997, pages 2345-2349, XP002161053 1997 ISSN: 0027-8424 the whole document	1-6, 10-16
X	FINDLTY HARRY W ET AL: "Expression and regulation of Bc1-2, Bc1-x1, and Bax correlate with p53 status and sensitivity to apoptosis in childhood acute lymphoblastic leukemia." BLOOD, vol. 89, no. 8, 1997, pages 2986-2993, XP002161054 ISSN: 9006-4971 page 2986 -page 2988; table 1	1-6,9-16
X	KRAJEWSKI STANISLAW ET AL: "Reduced expression of proapoptotic gene BAX is associated with poor response rates to combination chemotherapy and shorter survival in women with metastatic breast adenocarcinoma." CANCER RESEARCH, vol. 55, no. 19, 1995, pages 4471-4478, XP002161055 ISSN: 0008-5472 the whole document	1-6,9-16

25

. .

Inta ional Application No
PCT/DE 00/01444

.(Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT	
ategory Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Chancer of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Helevasii to claim No.
WO 98 53103 A (BIBILASHVILLI ROBERT; CHENCHIK ALEX (US); JOKHADZE GEORGE (US); CL) 26 November 1998 (1998-11-26) page 14 page 52 page 77 page 103 page 131 page 149, line 25 -page 150, line 2; tables 1,3,6,9	1,11
DATABASE BIOSIS 'Online! BIOSCIENCES INFORMATION SERVICE, PHILADELPHIA, PA, US; August 1998 (1998-08) TAI YU-TZU ET AL: "BAX protein expression and clinical outcome in epithelial ovarian cancer." Database accession no. PREV199800406324 XP002161066 abstract & JOURNAL OF CLINICAL ONCOLOGY, vol. 16, no. 8, August 1998 (1998-08), pages 2583-2590, ISSN: 0732-183X	1-6, 10-16
MEIJERINK JULES P P ET AL: "Hematopoietic malignancies demonstrate loss-of-function mutations of BAX." BLOOD, vol. 91, no. 8, 15 April 1998 (1998-04-15), pages 2991-2997, XP002161056 ISSN: 0006-4971 the whole document	1-16

Information on patent family members

Into Jonal Application No PCT/DE 00/01444

mo	mation on patent family memi	pers	PCT/DE	00/01444
Patent document cited in search report	Publication date	Patent memb	family per(s)	Publication date
WO 9853103 A	26-11-1998	AU 7! EP 09	994076 A 593398 A 988398 A 077673 A	30-11-1999 11-12-1998 29-03-2000 20-06-2000

νŔ

INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Inte Jonales Aktenzeichen PCT/DE 00/01444

A. KLASSIFIZ	TERUNG DES ANME	LDUNGSGEGENSTANDES
IPK 7	C12Q1/68	

Nach der Internationalen Patentklassifikation (IPK) oder nach der nationalen Klassifikation und der IPK

B. RECHERCHIERTE GEBIETE

Recherchierter Mindestprüfstoff (Klassifikationssystem und Klassifikationssymbole) $IPK \ 7 \ C12Q$

Recherchierte aber nicht zum Mindestprüfstoff gehörende Veröffentlichungen, soweit diese unter die recherchierten Gebiete fallen

Während der internationalen Recherche konsultierte elektronische Datenbank (Name der Datenbank und evtl. verwendete Suchbegriffe)

EPO-Internal, PAJ, WPI Data, BIOSIS, EMBASE, CHEM ABS Data

Kategorie°
X

Weitere Veröffentlichungen sind der Fortsetzung von Feld C zu entnehmen	X Siehe Anhang Patentfamilie
 Besondere Kategorien von angegebenen Veröffentlichungen: 'A' Veröffentlichung, die den allgemeinen Stand der Technik definiert, aber nicht als besonders bedeutsam anzusehen ist 'E' ätteres Dokument, das jedoch erst am oder nach dem internationalen Anmeidedatum veröffentlicht worden ist 'L' Veröffentlichung, die geeignet ist, einen Prioritätsanspruch zweifelhaft erscheinen zu lassen, oder durch die das Veröffentlichungsdatum einer anderen im Recherchenbericht genannten Veröffentlichungsdatum einer soll oder die aus einem anderen besonderen Grund angegeben ist (wie ausgeführt) 'O' Veröffentlichung, die sich auf eine mündliche Offenbarung, eine Benutzung, eine Ausstellung oder andere Maßnahmen bezieht 'P' Veröffentlichung, die vor dem internationalen Anmeldedatum, aber nach dem beanspruchten Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist 	 'T' Spätere Veröffentlichung, die nach dem internationalen Anmeldedatum oder dem Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist und mit der Anmeldung nicht kollidiert, sondem nur zum Verständnis des der Erfindung zugrundeliegenden Prinzips oder der ihr zugrundeliegenden Theorie angegeben ist 'X' Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann allein aufgrund dieser Veröffentlichung nicht als neu oder auf erfinderischer Tätigkeit beruhend betrachtet werden 'Y' Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann nicht als auf erfinderischer Tätigkeit beruhend betrachtet werden, wenn die Veröffentlichung mit einer oder meherren anderen Veröffentlichungen dieser Kategorie in Verbindung gebracht wird und diese Verbindung für einen Fachmann naheliegend ist '&' Veröffentlichung, die Mitglied derselben Patentfamilie ist
Datum des Abschlusses der internationalen Recherche 21. Februar 2001	Absendedatum des internationalen Recherchenberichts 06/03/2001
Name und Postanschrift der Internationalen Recherchenbehörde Europäisches Patentamt, P.B. 5818 Patentlaan 2 NL – 2280 HV Rijswijk Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl, Fax: (+31-70) 340-3016	Bevollmächtigter Bediensteter Reuter, U

1

2

INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Intc. .ionales Aktenzeichen
PCT/DE 00/01444

C.(Fortsetzung) ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN Kategorie* Bezeichnung der Veröffentlichung, soweil erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile X REED JOHN C ET AL: "BCL-2 Family proteins: Regulators of cell death involved in the pathogenesis of cancer and resistance to therapy." JOURNAL OF CELLULAR BIOCHEMISTRY, Bd. 60, Nr. 1, 1996, Seiten 23-32, XP002161051 ISSN: 0730-2312 Seite 23-25 Seite 27-28 X LOWE SCOTT W ET AL: "P53 status and the efficacy of cancer therapy in vivo." SCIENCE (WASHINGTON D C), Bd. 266, Nr. 5186, 1994, Seiten 807-810, XP002161052 ISSN: 0036-8075 das ganze Dokument X MCCURRACH MILA E ET AL: "Bax-deficiency promotes drug resistance and oncogenic transformation by attenuating p53-dependent apoptosis." PROCEEDINGS OF THE NATIONAL ACADEMY OF	
X REED JOHN C ET AL: "BCL-2 Family proteins: Regulators of cell death involved in the pathogenesis of cancer and resistance to therapy." JOURNAL OF CELLULAR BIOCHEMISTRY, Bd. 60, Nr. 1, 1996, Seiten 23-32, XP002161051 ISSN: 0730-2312 Seite 23-25 Seite 27-28 X LOWE SCOTT W ET AL: "P53 status and the efficacy of cancer therapy in vivo." SCIENCE (WASHINGTON D C), Bd. 266, Nr. 5186, 1994, Seiten 807-810, XP002161052 ISSN: 0036-8075 das ganze Dokument X MCCURRACH MILA E ET AL: "Bax-deficiency promotes drug resistance and oncogenic transformation by attenuating p53-dependent apoptosis." PROCEEDINGS OF THE NATIONAL ACADEMY OF	Betr. Anspruch Nr.
proteins: Regulators of cell death involved in the pathogenesis of cancer and resistance to therapy." JOURNAL OF CELLULAR BIOCHEMISTRY, Bd. 60, Nr. 1, 1996, Seiten 23-32, XP002161051 ISSN: 0730-2312 Seite 23-25 Seite 27-28 X LOWE SCOTT W ET AL: "P53 status and the efficacy of cancer therapy in vivo." SCIENCE (WASHINGTON D C), Bd. 266, Nr. 5186, 1994, Seiten 807-810, XP002161052 ISSN: 0036-8075 das ganze Dokument X MCCURRACH MILA E ET AL: "Bax-deficiency promotes drug resistance and oncogenic transformation by attenuating p53-dependent apoptosis." PROCEEDINGS OF THE NATIONAL ACADEMY OF	
efficacy of cancer therapy in vivo." SCIENCE (WASHINGTON D C), Bd. 266, Nr. 5186, 1994, Seiten 807-810, XP002161052 ISSN: 0036-8075 das ganze Dokument MCCURRACH MILA E ET AL: "Bax-deficiency promotes drug resistance and oncogenic transformation by attenuating p53-dependent apoptosis." PROCEEDINGS OF THE NATIONAL ACADEMY OF	1-6,9-16
promotes drug resistance and oncogenic transformation by attenuating p53-dependent apoptosis." PROCEEDINGS OF THE NATIONAL ACADEMY OF	1-6,9-16
SCIENCES OF THE UNITED STATES, Bd. 94, Nr. 6, 1997, Seiten 2345-2349, XP002161053 1997 ISSN: 0027-8424 das ganze Dokument	1-6, 10~16
FINDLEY HARRY W ET AL: "Expression and regulation of Bcl-2, Bcl-xl, and Bax correlate with p53 status and sensitivity to apoptosis in childhood acute lymphoblastic leukemia." BLOOD, Bd. 89, Nr. 8, 1997, Seiten 2986-2993, XP002161054 ISSN: 0006-4971 Seite 2986 -Seite 2988; Tabelle 1	1-6,9-16
X KRAJEWSKI STANISLAW ET AL: "Reduced expression of proapoptotic gene BAX is associated with poor response rates to combination chemotherapy and shorter survival in women with metastatic breast adenocarcinoma." CANCER RESEARCH, Bd. 55, Nr. 19, 1995, Seiten 4471-4478, XP002161055 ISSN: 0008-5472 das ganze Dokument	1-6,9-16
-/	

133

INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Inte ionales Aktenzeichen
PCT/DE 00/01444

X WO 98 53103 A (BIBILASHVILLI ROBERT; CHENCHIK ALEX (US); JOKHADZE GEORGE (US); CL) 26. November 1998 (1998-11-26) Seite 14 Seite 52 Seite 77 Seite 103 Seite 131 Seite 149, Zeile 25 -Seite 150, Zeile 2; Tabellen 1,3,6,9 X DATABASE BIOSIS 'Online! BIOSCIENCES INFORMATION SERVICE, PHILADELPHIA, PA, US; August 1998 (1998-08) TAI YU-TZU ET AL: "BAX protein expression and clinical outcome in epithelial ovarian cancer." Database accession no. PREV199800406324 XP002161066 Zusammenfassung & JOURNAL OF CLINICAL ONCOLOGY, Bd. 16, Nr. 8, August 1998 (1998-08), Seiten 2583-2590,	1,11 1-6, 10-16
;CHENCHIK ALEX (US); JOKHADZE GEORGE (US); CL) 26. November 1998 (1998-11-26) Seite 14 Seite 52 Seite 77 Seite 103 Seite 131 Seite 149, Zeile 25 -Seite 150, Zeile 2; Tabellen 1,3,6,9 X DATABASE BIOSIS 'Online! BIOSCIENCES INFORMATION SERVICE, PHILADELPHIA, PA, US; August 1998 (1998-08) TAI YU-TZU ET AL: "BAX protein expression and clinical outcome in epithelial ovarian cancer." Database accession no. PREV199800406324 XP002161066 Zusammenfassung & JOURNAL OF CLINICAL ONCOLOGY, Bd. 16, Nr. 8, August 1998 (1998-08),	1-6,
BIOSCIENCES INFORMATION SERVICE, PHILADELPHIA, PA, US; August 1998 (1998-08) TAI YU-TZU ET AL: "BAX protein expression and clinical outcome in epithelial ovarian cancer." Database accession no. PREV199800406324 XP002161066 Zusammenfassung & JOURNAL OF CLINICAL ONCOLOGY, Bd. 16, Nr. 8, August 1998 (1998-08),	
ISSN: 0732-183X	
MEIJERINK JULES P P ET AL: "Hematopoietic malignancies demonstrate loss-of-function mutations of BAX." BLOOD, Bd. 91, Nr. 8, 15. April 1998 (1998-04-15), Seiten 2991-2997, XP002161056 ISSN: 0006-4971 das ganze Dokument	1-16

. 3

INTERNATIONALER

CHERCHENBERICHT

onales Aktenzeichen

Angaben zu Veröffentlichungen,	GC 221 0010011			CI/DE	00/01444
Im Recherchenbericht angeführtes Patentdokument	Datum der Veröffentlichung	Mi	tglied(er) der atentfamilie		Datum der Veröffentlichung
WO 9853103 A	26-11-1998	US AU EP	5994076 7593398 0988398	Α	30-11-1999 11-12-1998 29-03-2000
ين يست منه ميدو ميد ميد ميد ميد بين بين بين ميد ميد منه منه منه ميدو ميدو ميدو ميدو الميدود		U\$	6077673		20-06-2000

R





PATENT COOPERATION TRATY

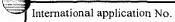
PCT

INTERNATIONAL PRELIMINARY EXAMINATION REPORT

(PCT Article 36 and Rule 70)

Applicant's or agent's file reference PCT/Theragen 01	FOR FURTHER ACTION		tionofTransmittalofInternational Preliminary n Report (Form PCT/IPEA/416)		
International application No. PCT/DE00/01444	International filing date (day/n 10 May 2000 (10.0		Priority date (day/month/year) 14 May 1999 (14.05.99)		
International Patent Classification (IPC) or n C12Q 1/68	national classification and IPC				
Applicant THERAGEN MOLEK	KULARMEDIZINISCHE I	NFORMA	TIONSSYSTEME AG		
 This international preliminary examination report has been prepared by this International Preliminary Examining Authority and is transmitted to the applicant according to Article 36. 					
2. This REPORT consists of a total of					
This report contains indications relating to the following items:					
I Basis of the report					
II Priority					
III Non-establishment	of opinion with regard to novelty	, inventive st	ep and industrial applicability		
IV Lack of unity of inv	rention				
V Reasoned statement citations and explan	t under Article 35(2) with regard nations supporting such statemen	to novelty, in	ventive step or industrial applicability;		
VI Certain documents	cited				
VII Certain defects in the	ne international application				
VIII Certain observation	s on the international application	1			
Date of submission of the demand	Date of	f completion of	of this report		
08 December 2000 (08.	.12.00)	01 October 2001 (01.10.2001)			
Name and mailing address of the IPEA/EP	Author	Authorized officer			
Facsimile No	Telenh	Telephone No.			





PCT/DE00/01444

INTERNATIONAL PRELIMINARY EXAMINATION REPORT

I. Ba	I. Basis of the report						
1. W	ith r	egard to the elements of the international application:*					
		the international application as originally filed					
$\bar{\triangleright}$	ā	the description:					
-		pages 1-9	, as originally filed				
		pages	, filed with the demand				
		pages, file	with the letter of				
abla	7	the claims:					
			on originally filed				
		. 6	, as originally filed as amended (together with any statement under Article 19				
			, filed with the demand				
			with the letter of				
	7		. With the letter of				
K		the drawings:					
		pages 1/3-3/3					
			, filed with the demand				
		pages, filed	with the letter of				
	th	e sequence listing part of the description:					
		pages	, as originally filed				
			, filed with the demand				
		pages, filed	with the letter of				
th	e inte nese	regard to the language , all the elements marked above were available ernational application was filed, unless otherwise indicated under the elements were available or furnished to this Authority in the follow the language of a translation furnished for the purposes of internation	is item. ing language which is:				
Ī	=	the language of publication of the international application (under l	, , , , ,				
		the language of the translation furnished for the purposes of inte or 55.3).	. "				
3. W pr	ith elim	regard to any nucleotide and/or amino acid sequence disclainary examination was carried out on the basis of the sequence listi	osed in the international application, the international age:				
		contained in the international application in written form.					
		filed together with the international application in computer readab	le form.				
		furnished subsequently to this Authority in written form.					
		furnished subsequently to this Authority in computer readable form					
		The statement that the subsequently furnished written sequentiational application as filed has been furnished.	ce listing does not go beyond the disclosure in the				
		The statement that the information recorded in computer readal been furnished.	ole form is identical to the written sequence listing has				
4. [The amendments have resulted in the cancellation of:					
	[the description, pages	*				
	Ì	the claims, Nos.					
	Ī	the drawings, sheets/fig					
5. [This report has been established as if (some of) the amendments he beyond the disclosure as filed, as indicated in the Supplemental Box					
in	this	ement sheets which have been furnished to the receiving Office in report as "originally filed" and are not annexed to this repo 1.17).	response to an invitation under Article 14 are referred to ort since they do not contain amendments (Rule 70.16				
		placement sheet containing such amendments must be referred to u	nder item 1 and annexed to this report.				
	•						

International application No.
PCT/DE 00/01444

V. Reasoned statement under Article 35(2) with regard to novelty, inventive step or industrial applicability; citations and explanations supporting such statement

1. Statement

Novelty (N)

Claims

7-9

YES

Claims

1-6, 10-16

NO

Claims YES
Claims 1-16 NO

Industrial applicability (IA)

Claims

1-16

YES

NO

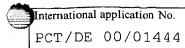
2. Citations and explanations

Inventive step (IS)

1). Preamble

It is known from the documents cited in the search report that oncogenesis, tumour progression and resistance to treatment can be determined by cell cycle- and apoptosis-regulating factors, that, by determining the expression profile thereof, genes associated with said tumour or cell growth can be used as prognostic markers, that the patient's response to chemotherapy and radiation therapy can be correlated and that such influences can be used for the purposes of diagnostic assessment as per the present claims.

2.1. Claim 1 is very broad, owing to the different options; the subject of the claimed method is genetic analysis for determining changes in connection with chemotherapy and/or radiation therapy and the "diagnostic assessment" of said changes. This procedure ("diagnostic assessment") was already described in all subsequently discussed documents (see D1-D6, in point 2.3.). Consequently, the subject matter of Claims 1-6 and 10 appears to lack novelty.



- 2.2. According to Claim 11, the results of the genetic analysis are used to determine resistance to treatment and to select treatment agents. Such a use for this combination (resistance + selection) is specified or alluded to, for example, in documents D1, D2, D4 and D6 (see point 2.3. below). Consequently, the subject matter of Claims 11-16 appears to lack novelty and inventive step.
- 2.3. Document D1: Sturm et al. (Bax as prognostic marker in connection with chemotherapy, e.g. page 1371; "combination" as per 2.2. above; see bottom righthand side of page 1364), D2: Reed et al. (bcl-2 as prognostic marker in connection with chemotherapy and radiation therapy and as target, the selection of effective drugs for treating malignant diseases; "combination" as per point 2.2. above; see top right-hand side of page 30), D3: Lowe et al. (p53 mutations create resistance to chemotherapy and radiation therapy), **D4:** McCurrach et al. (influence of Bax status on the apoptosis regulation of p53 and the consideration thereof in selecting a treatment; "combination" as per point 2.2. above; see page 2348, under text for Figure 3, right-hand side), D5: Findley et al. (bc12, Bax and p53 as markers for evaluating radiation therapy); D6: Krajewsky et al. (low Bax expression level shows poor effect of chemotherapy; "combination" as per point 2.2. above; see page 4477, last part of the discussion).

VII. Certain defects in the international applic
--

The following defects in the form or contents of the international application have been noted:

Contrary to PCT Rule 5.1(a)(ii), the description does not cite documents D1-D6, nor the relevant prior art disclosed therein.

VIII. Certain observations on the international application

The following observations on the clarity of the claims, description, and drawings or on the question whether the claims are fully supported by the description, are made:

The multiple use of "and/or" in Claim 1 results in a number of possibilities. Said claim therefore appears to contravene the requirements for clarity, concision and support from the description (PCT Article 6).



PCT

NOTIFICATION OF ELECTION

(PCT Rule 61.2)

From the INTERNATIONAL BUREAU

To:

Commissioner
US Department of Commerce
United States Patent and Trademark
Office, PCT
2011 South Clark Place Room
CP2/5C24
Arlington, VA 22202

Date of mailing (day/month/year)

17 January 2001 (17.01.01)

Arilington, VA 22202

ETATS-UNIS D'AMERIQUE

in its capacity as elected Office

17 January 2001 (17.01.01)

International application No.
PCT/DE00/01444

PCT/Theragen 01

International filing date (day/month/year)
10 May 2000 (10.05.00)

Applicant

DANIEL, Peter et al

F	
1.	The designated Office is hereby notified of its election made:
	X in the demand filed with the International Preliminary Examining Authority on:
	
	08 December 2000 (08.12.00)
	in a notice effecting later election filed with the International Bureau on:
2.	The election X was
	was not
	made before the expiration of 19 months from the priority date or, where Rule 32 applies, within the time limit under
	Rule 32.2(b).

The International Bureau of WIPO 34, chemin des Colombettes 1211 Geneva 20, Switzerland

Authorized officer

Diana Nissen

Telephone No.: (41-22) 338.83.38

Facsimile No.: (41-22) 740.14.35

PCT

WIPO

VERTRAG ÜBER DIE INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT AUF DEM REC'D 0 4 OCT 2001 **GEBIET DES PATENTWESENS**

PCT

INTERNATIONALER VORLÄUFIGER PRÜFUNGSBERICHT

(Artikel 36 und Regel 70 PCT)

Aktenzeichen des Anmelders oder Anwalts			weiteres vorgehen			
PCT/Theragen 01			WEITERES VORGEHEN vorläufigen Prüfungsberichts (Formblatt PCT/IPEA/416)			
Internationales Aktenzeichen			Internationales Anmeldedatum(Tag/Monat/Jahr) Prioritätsdatum (Tag/Monat/Tag)			
PCT/DE00/01444 10/05/20			10/05/2000 14/05/1999			
International C12Q1/6		tentklassifikation (IPK) oder r	nationale Klassifikation und IPK			
THERAG	EN I	MOLEKULARMEDIZIN	ISCHE INFORMAT et al.			
1. Diese Behör	r inte rde ei	rnationale vorläufige Prüf rstellt und wird dem Anme	fungsbericht wurde von der mit der internationalen vorläufigen Prüfung beauftragten elder gemäß Artikel 36 übermittelt.			
2. Diese	r BEF	RICHT umfaßt insgesamt	5 Blätter einschließlich dieses Deckblatts.			
u B	 Außerdem liegen dem Bericht ANLAGEN bei; dabei handelt es sich um Blätter mit Beschreibungen, Ansprüchen und/oder Zeichnungen, die geändert wurden und diesem Bericht zugrunde liegen, und/oder Blätter mit vor dieser Behörde vorgenommenen Berichtigungen (siehe Regel 70.16 und Abschnitt 607 der Verwaltungsrichtlinien zum PCTDiese Anlagen umfassen insgesamt Blätter. 					
3. Diese	r Beri ⊠	cht enthält Angaben zu fo Grundlage des Berichts				
11		Priorität				
			Gutachtens über Neuheit, erfinderische Tätigkeit und gewerbliche Anwendbarkeit			
V V	∐ ⊠	Mangelnde Einheitlichke Begründete Feststellung gewerblichen Anwendba	en der Enindung g nach Artikel 35(2) hinsichtlich der Neuheit, der erfinderischen Tätigkeit und der arkeit; Unterlagen und Erklärungen zur Stützung dieser Feststellung			
VI		Bestimmte angeführte U	Interlagen			
VII	Ø		nternationalen Anmeldung			
VIII	⊠ 	Bestimmte Bemerkunge	n zur internationalen Anmeldung			
Datum der E	inreic	hung des Antrags	Datum der Fertigstellung dieses Berichts			
08/12/200	00		01.10.2001			
Name und P Prüfung bea	uftrag	schrift der mit der internation ten Behörde:	alen vorläufigen Bevollmächtigter Bediensteter			
0))		päisches Patentamt 298 München	Cuendet, P			

Tel. Nr. +49 89 2399 8690

Fax: +49 89 2399 - 4465

Tel. +49 89 2399 - 0 Tx: 523656 epmu d





INTERNATIONALER VORLÄUFIGER PRÜFUNGSBERICHT

Internationales Aktenzeichen PCT/DE00/01444

l.	Grun	dlage	des	Berichts
----	------	-------	-----	-----------------

1.	didinage des belicités						
1.	 Hinsichtlich der Bestandteile der internationalen Anmeldung (Ersatzblätter, die dem Anmeldeamt auf eine Aufforderung nach Artikel 14 hin vorgelegt wurden, gelten im Rahmen dieses Berichts als "ursprünglich eingereicht" und sind ihm nicht beigefügt, weil sie keine Änderungen enthalten (Regeln 70.16 und 70.17)): Beschreibung, Seiten: 						
	1-9	•	ursprüngliche Fassung				
	Pa	tentansprüche, Nr.	.:				
	1-1	6	ursprüngliche Fassung				
	Zei	ichnungen, Blätter	:				
	1/3	-3/3	ursprüngliche Fassung				
 Hinsichtlich der Sprache: Alle vorstehend genannten Bestandteile standen der Behörde in der Sprache, die internationale Anmeldung eingereicht worden ist, zur Verfügung oder wurden in dieser eingereicht, se unter diesem Punkt nichts anderes angegeben ist. 							
		Bestandteile stand gereicht; dabei hand	en der Behörde in der Sprache: zur Verfügung bzw. wurden in dieser Sprache delt es sich um				
		die Sprache der Ü Regel 23.1(b)).	bersetzung, die für die Zwecke der internationalen Recherche eingereicht worden ist (nach				
		die Veröffentlichur	ngssprache der internationalen Anmeldung (nach Regel 48.3(b)).				
		die Sprache der Ü ist (nach Regel 55	bersetzung, die für die Zwecke der internationalen vorläufigen Prüfung eingereicht worden .2 und/oder 55.3).				
3.			nternationalen Anmeldung offenbarten Nucleotid- und/oder Aminosäuresequenz ist die e Prüfung auf der Grundlage des Sequenzprotokolls durchgeführt worden, das:				
		in der international	en Anmeldung in schriftlicher Form enthalten ist.				
		zusammen mit der	internationalen Anmeldung in computerlesbarer Form eingereicht worden ist.				
		bei der Behörde na	achträglich in schriftlicher Form eingereicht worden ist.				
		bei der Behörde na	achträglich in computerlesbarer Form eingereicht worden ist.				
		Die Erklärung, daß	das nachträglich eingereichte schriftliche Sequenzprotokoll nicht über den alt der internationalen Anmeldung im Anmeldezeitpunkt hinausgeht, wurde vorgelegt.				
			die in computerlesbarer Form erfassten Informationen dem schriftlichen entsprechen, wurde vorgelegt.				
4.	Auf	grund der Änderung	gen sind folgende Unterlagen fortgefallen:				





INTERNATIONALER VORLÄUFIGER **PRÜFUNGSBERICHT**

Internationales Aktenzeichen PCT/DE00/01444

	Beschreibung,	Seiten:
	Ansprüche,	Nr.:
	Zeichnungen,	Blatt:
5.	angegebenen Gründ eingereichten Fassur	ne Berücksichtigung (von einigen) der Änderungen erstellt worden, da diese aus den en nach Auffassung der Behörde über den Offenbarungsgehalt in der ursprünglich ng hinausgehen (Regel 70.2(c)). e solche Änderungen enthalten, ist unter Punkt 1 hinzuweisen;sie sind diesem Bericht

- 6. Etwaige zusätzliche Bemerkungen:
- V. Begründete Feststellung nach Artikel 35(2) hinsichtlich der Neuheit, der erfinderischen Tätigkeit und der gewerblichen Anwendbarkeit; Unterlagen und Erklärungen zur Stützung dieser Feststellung
- 1. Feststellung

Neuheit (N)

Ja: Ansprüche

7-9

1-16

Nein: Ansprüche 1-6,10-16

Erfinderische Tätigkeit (ET)

Ansprüche Ja:

Nein: Ansprüche 1-16

Gewerbliche Anwendbarkeit (GA)

Ja: Ansprüche

Nein: Ansprüche

2. Unterlagen und Erklärungen siehe Beiblatt

VII. Bestimmte Mängel der internationalen Anmeldung

Es wurde festgestellt, daß die internationale Anmeldung nach Form oder Inhalt folgende Mängel aufweist: siehe Beiblatt

VIII. Bestimmte Bemerkungen zur internationalen Anmeldung

Zur Klarheit der Patentansprüche, der Beschreibung und der Zeichnungen oder zu der Frage, ob die Ansprüche in vollem Umfang durch die Beschreibung gestützt werden, ist folgendes zu bemerken: siehe Beiblatt





1). Präambel

Gemäss der im Recherchenbericht zitierten Dokumente war bekannt, dass Tumorentstehung, Tumorprogression und Therapieresistenz durch Zellzyklusund Apoptose-regulierende Faktoren bestimmt werden und man durch Bestimmung ihres Expressionsprofils diese Tumor- bzw. Zellwachstumassoziierten Gene als prognostische Marker nutzen und das Ansprechen des Patienten auf Chemotherapeutika und Strahlenthgerapie korrelieren kann und solche Zusammenhänge zur diagnosischen Bewertung gemäss der vorliegenden Ansprüche verwendet werden können.

2). Punkt V.2.

- 2.1. Anspruch 1 ist mit seinen verschiedenen Optionen sehr breit; Gegenstand des beanspruchten Verfahrens ist die genetische Analyse zur Ermittlung von Veränderungen im Zusammenhang mit Chemotherapie und/oder Strahlentherapie und die "diagnostische Bewertung" dieser Veränderungen. Dieses Vorgehen (mit abschliessender "diagnostische Bewertung") ist in allen anschliessend diskutierten Dokumenten bereits beschrieben worden (s. D1-D6, in Punkt 2.3.). Demnach scheint der Gegenstand der Ansprüche1-6 und 10 nicht neu zu sein.
- 2.2. Gemäss Anspruch 11 werden die Resultate der genetischen Analyse zur Ermittlung von Resistenz gegen Therapie und zur Auswahl therapeutischer Mittel verwendet. Die Verwendung für diese Kombination (Resistenz + Auswahl) ist z.B in den Dokumenten D1, D2, D4 und D6 angegeben/angedeutet (s. unten in Punkt 2.3.). Demnach scheint der Gegenstand der Ansprüche 11-16 nicht neu zu sein / nicht auf einer erfinderischen Tätigkeit beruhen.
- 2.3. Dokument D1: Sturm et al. (Bax als prognostischer Marker im Zusammenhang mit Chemotherapeutika, z.B. S.1371; "Kombination" gemäss Punkt 2.2. oben, s. S.1364 unten rechts), D2: Reed et al. (bcl-2 als prognostischer Marker im Zusammenhang mit Chemotherapeutika und Strahlentherapie und als Ziel die Auswahl von wirkungsvollen Medikamenten zur Therapie maligner Erkrankungen; "Kombination" gemäss Punkt 2.2. oben, s. S.30 oben rechts)), D3: Lowe et al. (p53 Mutationen bewirken Resistenz gegen Chemotherapeutika und Strahlentherapie, D4: McCurrach et al. (Einfluss des Bax-Status auf

INTERNATIONALER VORLÄUFIGER PRÜFUNGSBERICHT - BEIBLATT

Internationales Aktenzeichen PCT/DE00/01444

Apoptoseregulation von p53 und diesbezügliche Berücksitigung bei Selektion eines Therapeutikums; "Kombination" gemäss Punkt 2.2. oben, s. S.2348 unter Text Fig.3, rechts), D5: Findley et al. (bc12, Bax und p53 als Marker für die Bewertung einer Strahlentherapie); D6: Krajewsky et al. (niedriges Bax-Expressionsniveau zeigt schlechte Wirkung einer Chemotherapie an; "Kombination" gemäss Punkt 2.2. oben, s. S.4477, letzer Abschnitt von Diskussion).

Punkt VII. 3).

Im Widerspruch zu den Erfordernissen der Regel 5.1 a) ii) PCT werden in der Beschreibung weder der in den Dokumenten D1-D6 offenbarte einschlägige Stand der Technik noch diese Dokumente angegeben.

Punkt VIII. 4).

Durch die mehrfache Verwendung des Ausdrucks "und/oder" in Anspruch 1 wird eine Vielzahl von Möglichkeiten induziert. Somit scheint dieser Anspruch gegen Erfordernisse wie Klarheit, Knappheit und Stützung durch die Beschreibung zu verstossen, Art. 6 PCT.

NOW

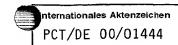
PCT

INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

(Artikel 18 sowie Regeln 43 und 44 PCT)

Aktenzeichen des Anmelders oder Anwalts WEITERES siehe Mitteilung über die Übermittlung des internationalen Recherchenberichts (Formblatt PCT/ISA/220) sowie, soweit zutreffend, nachstehender Punkt 5								
Internationales Aktenzeichen	Internationales Anmelded	latum	(Frühestes) Prioritätsdatum (Tag/Monat/Jahr)					
PCT/DE 00/01444	(Tag/Monat/Jahr) 10/05/2000		14/	05/1999				
Anmelder	10,00,200							
• • • • • • • • • • • • • • • • • • • •								
MOLEKULARMEDIZINISCHE INFORMATIONSSYSTEME AG								
Dieser internationale Recherchenbericht wurd Artikel 18 übermittelt. Eine Kopie wird dem In			stellt und wird de	em Anmelder gemäß				
Dieser internationale Recherchenbericht umfa X Darüber hinaus liegt ihm jet	aßtinsgesamt <u>4</u> weils eine Kopie der in diese	Blätter. em Bericht genannten	Jnterlagen zum	Stand der Technik bei.				
Grundlage des Berichts								
Hinsichtlich der Sprache ist die inte durchgeführt worden, in der sie eing	ernationale Recherche auf d gereicht wurde, sofern unter	er Grundlage der interi diesem Punkt nichts a	nationalen Anme Inderes angegeb	eldung in der Sprache ben ist.				
Die internationale Recherch Anmeldung (Regel 23.1 b))		er bei der Behörde ein	gereichten Übers	setzung der internationalen				
b. Hinsichtlich der in der internationale Recherche auf der Grundlage des S	en Anmeldung offenbarten N	lucleotid- und/oder A ührt worden, das	Aminosäurese q	uenz ist die internationale				
I — ~	eldung in Schriflicher Form e							
zusammen mit der internati	zusammen mit der internationalen Anmeldung in computerlesbarer Form eingereicht worden ist.							
bei der Behörde nachträglich in schriftlicher Form eingereicht worden ist.								
bei der Behörde nachträglich in computerlesbarer Form eingereicht worden ist.								
	hträglich eingereichte schrif im Anmeldezeitpunkt hinau			Offenbarungsgehalt der				
Die Erklärung, daß die in co wurde vorgelegt.	omputerlesbarer Form erfaß	ten Informationen dem	schriftlichen Se	quenzprotokoll entsprechen,				
2. Bestimmte Ansprüche ha	ben sich als nicht recherc	chierbar erwiesen (sie	he Feld!).					
3. Mangelnde Einheitlichkei	t der Erfindung (siehe Feld	HII).						
Hinsichtlich der Bezeichnung der Erfir	ndung							
wird der vom Anmelder eine	gereichte Wortlaut genehmi	gt.						
X wurde der Wortlaut von der	Behörde wie folgt festgese	tzt:						
VERFAHREN ZUM NACHWEIS ODER EINER STRAHLENTHE				OTHERAPEUTIKA UND/				
5. Hinsichtlich der Zusammenfassung								
wurde der Wortlaut nach R	gereichte Wortlaut genehmig egel 38.2b) in der in Feld III e innerhalb eines Monats na tellungnahme vorlegen.	angegebenen Fassun	g von der Behör sendung dieses	de festgesetzt. Der : internationalen				
6. Folgende Abbildung der Zeichnungen	ist mit der Zusammenfassu	ng zu veröffentlichen:						
wie vom Anmelder vorgesc	hlagen		X	keine der Abb.				
weil der Anmelder selbst ke	eine Abbildung vorgeschlage	en hat.						
weil diese Abbildung die Er	weil diese Abbildung die Erfindung besser kennzeichnet.							

INTERNATION RECHERCHENBERICHT



a. Klassifizierung des anmeldungsgegenstandes IPK 7 C12Q1/68

Nach der Internationalen Patentklassifikation (IPK) oder nach der nationalen Klassifikation und der IPK

B. RECHERCHIERTE GEBIETE

Recherchierter Mindestprüfstoff (Klassifikationssystem und Klassifikationssymbole) IPK - 7 - C12Q

Recherchierte aber nicht zum Mindestprüfstoff gehörende Veröffentlichungen, soweit diese unter die recherchierten Gebiete fallen

Während der internationalen Recherche konsultierte elektronische Datenbank (Name der Datenbank und evtl. verwendete Suchbegriffe)

EPO-Internal, PAJ, WPI Data, BIOSIS, EMBASE, CHEM ABS Data

Kategorie®	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
X	STURM ISRID ET AL: "Analysis of the p53/BAX pathway in colorectal cancer: Low BAX is a negative prognostic factor in patients with resected liver metastases." JOURNAL OF CLINICAL ONCOLOGY, Bd. 17, Nr. 5, Mai 1999 (1999-05), Seiten 1364-1374, XP000982432 ISSN: 0732-183X Seite 1364 Seite 1371 -Seite 1372	1-6, 10-16

 Besondere Kategorien von angegebenen Veröffentlichungen : "A" Veröffentlichung, die den allgemeinen Stand der Technik definiert, aber nicht als besonders bedeutsam anzusehen ist "E" älteres Dokument, das jedoch erst am oder nach dem internationalen Anmeldedatum veröffentlicht worden ist "L" Veröffentlichung, die geeignet ist, einen Prioritätsanspruch zweifelhaft erscheinen zu lassen, oder durch die das Veröffentlichungsdatum einer anderen im Recherchenbericht genannten Veröffentlichung belegt werden soll oder die aus einem anderen besonderen Grund angegeben ist (wie ausgeführt) "O" Veröffentlichung, die sich auf eine mündliche Offenbarung, eine Benutzung, eine Ausstellung oder andere Maßnahmen bezieht "P" Veröffentlichung, die vor dem internationalen Anmeldedatum, aber nach dem beanspruchten Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist 	 *T* Spätere Veröffentlichung, die nach dem internationalen Anmeldedatum oder dem Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist und mit der Anmeldung nicht kollidiert, sondern nur zum Verständnis des der Erfindung zugrundeliegenden Prinzips oder der ihr zugrundeliegenden Theorie angegeben ist *X* Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann allein aufgrund dieser Veröffentlichung nicht als neu oder auf erfinderischer Tätigkeit beruhend betrachtet werden *Y* Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann nicht als auf erfinderischer Tätigkeit beruhend betrachtet werden, wenn die Veröffentlichung mit einer oder mehreren anderen Veröffentlichungen dieser Kategorie in Verbindung gebracht wird und diese Verbindung für einen Fachmann naheliegend ist *&* Veröffentlichung, die Mitglied derselben Patentfamilie ist
Datum des Abschlusses der internationalen Recherche	Absendedatum des internationalen Recherchenberichts
21. Februar 2001	06/03/2001
Name und Postanschrift der Internationalen Recherchenbehörde Europäisches Patentamt, P.B. 5818 Patentlaan 2 NL – 2280 HV Rijswijk	Bevollmächtigter Bediensteler
Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl, Fax: (+31-70) 340-3016	Reuter, U

2

Fax: (+31-70) 340-3016